

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Mgr. Zbyněk Stráský

Školitel: Doc. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Název disertační práce: Možnosti ovlivnění aterogeneze u experimentálních zvířecích modelů a endoteliálních buněk.

Tato komentovaná disertační práce se zabývá studiem Endoglinu a *Spiruliny platensis* v procesu aterosklerózy jak *in vivo*, tak *in vitro* zejména s ohledem na cévní endotel.

Endoglin (CD 105, TGF- β receptor III, ENG) je homodimerní membránový glykoprotein, který hraje regulační úlohu v signalizaci TGF β . Pro naše studie je zásadní vazba endoglinu a endoteliální NO-syntázy (eNOS). Endoglin zvyšuje expresi eNOS a podporuje tvorbu NO, čímž ovlivňuje funkci cévního endotelu. Změny exprese eNOS a endoglinu by tedy mohly souviset s rozvojem endoteliální dysfunkce, klíčovým krokem při aterogenezi.

V našich studiích jsme sledovali vliv cholesterolu (1% cholesterolová dieta) a statinů (atorvastatin) na hladiny endoglinu u myšičího modelu aterosklerózy. Studie sledující vliv cholesterolu prokázala, že hypercholesterolemie zvyšuje hladiny endoglinu v krvi a zároveň snižuje jeho expresi v aortě společně s některými protektivními markery aterosklerózy, jako jsou např. p-Smad2 a VEGF. Z dalších výsledků je patrné, že statiny zvyšují hladiny endoglinu jako i ostatních protektivních markerů aterosklerózy a zároveň snižují velikost aterosklerotických lézí, aniž by došlo k hypolipidemickému účinku. Kromě toho atorvastatin současně snižuje hladiny solubilního endoglinu, což naznačuje, že monitorování hladin endoglinu v séru může představovat slibný marker progresu nebo léčby aterosklerózy.

Spirulina platensis je zeleno-modrá řasa patřící do skupiny kyanobakterií. Jde o lidský a živočišný doplněk stravy. Obsahuje proteinové komplexy s lineárními tetrapyroly zvané fykobiliproteiny složené z proteinové části (fykokyaniny) a lineárního tetrapyrolu (fykokyanobilin). Fykokyanobilin (PCB) je biliverdinový derivát, který je převeden pomocí enzymu biliverdin reduktázy na fykokyanorubin, což je substance téměř totožná ve struktuře jako bilirubin u kterého jsou známé protektivní účinky v aterogenezi.

Na základě těchto informací jsme studovali vliv *Spiruliny* a PCB na expresi a aktivitu hemoxygenázy-1 (HMOX1, HO-1), což je klíčový enzym katabolismu hemu s výraznými

ateroprotektivními vlastnostmi *in vivo* a *in vitro*. V této studii jsme *in vitro* na endotelových buňkách prokázali silné aktivující účinky nejen Spiruliny, ale i PCB na expresi HO-1 a také na aktivitu tohoto enzymu. Zároveň jsme po podání Spiruliny u endotelových buněk pozorovali současné zvýšení endoteliální NO syntázy a snížení exprese buněčné adhezní molekuly VCAM-1, které poskytují důkaz jejího potenciálního ateroprotektivního účinku.

Tyto *in vitro* údaje byly potvrzeny v *in vivo* studiích u ApoE-deficientních myší krmených cholesterolem. Podávání Spiruliny *platensis* mělo za následek signifikantní zvýšení ateroprotektivní HO-1 a eNOS v aterosklerotických lézích v aortě. Zdá se, že vliv Spiruliny na indukci HO-1 je univerzální, protože jsme byli schopni jasně prokázat upregulaci HO-1 na transkripční i funkční (aktivita enzymu) úrovni ve slezině HMOX1-luc transgenních myší.

Z těchto důvodů může aktivace HO-1 (spolu s přímými účinky PCB) reprezentovat zajímavý mechanismus jak podávání Spiruliny *platensis* může přispívat k pozitivnímu vlivu na aterosklerózu.

Závěrem lze tedy konstatovat, že výsledky této disertační práce poukazují na významnou roli endoglinu v procesu aterosklerózy a to jak z hlediska jeho tkáňové exprese tak z hlediska jeho solubilní formy jako potenciálního biomarkeru aterogenního procesu. Dále lze konstatovat, že Spirulina *platensis*, která kromě již dříve prokázaných antioxidačních a hypolipidemických efektů, také zvyšuje expresi významného ateroprotektivního enzymu, hemoxygenázy-1, což by mohlo být využito ke kardiovaskulární protekci tohoto doplňku stravy.